


0-734604

На правах рукописи



ЗИНАТУЛЛИН АЛЬБЕРТ НАИЛЕВИЧ

**ТЕРМОХИМИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В СИСТЕМЕ
БЕЛОК - ОРГАНИЧЕСКИЙ РАСТВОРИТЕЛЬ - ВОДА**

02.00.04 — физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

КАЗАНЬ - 2003

Работа выполнена на кафедре физической химии Казанского государственного университета имени В.И. Ульянова-Ленина

Научные руководители: доктор химических наук, профессор
Б.Н. СОЛОМОНОВ
кандидат химических наук, доцент
В.А. СИРОТКИН

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор
В.В. ОВЧИННИКОВ
кандидат физико-
математических наук старший
научный сотрудник Ю.Ф. ЗУЕВ

Ведущая организация: Институт химической физики
им. Н.Н. Семенова РАН, г. Москва

Защита состоится "25" июня 2003 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 212.081.03 в Казанском государственном университете имени В.И. Ульянова-Ленина (г. Казань, ул. Кремлевская, 18, НИХИ им. А.М. Бутлерова, Бутлеровская аудитория).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Н.И. Лобачевского Казанского государственного университета имени В.И. Ульянова-Ленина.

Отзыв на автореферат направлять по адресу: 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18, КГУ, научная часть.

Автореферат разослан "22" мая 2003 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор химических наук



И.В. Коновалова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время является общепризнанным, что взаимодействия молекул с окружением могут оказывать значительное влияние на протекание различных биологических и физико-химических процессов. Так, интенсивно развивающиеся последние два десятилетия работы в области ферментативного катализа в органических средах с низким содержанием воды открыли новое научное направление, демонстрирующее широкие возможности управления ферментативными реакциями путем варьирования природы растворителя. В таких системах смена естественного водного окружения белка на нетипичное органическое (с образованием поверхности, разделяющей твердую фазу белка, и жидкую фазу, содержащую органический компонент) приводит к тому, что белковые макромолекулы демонстрируют новые уникальные качества: повышенную термостабильность; возможность катализировать реакции, не протекающие в присутствии ферментов в водных растворах (например, ацилирование, переэтерификацию, синтез пептидов); явление «молекулярной памяти» - способность осушенных белков запоминать «водную» конформацию субстрата и селективно сорбировать их из органических сред.

Цель работы.

1) Изучение энергетики образования гетерогенных систем «белок + органический растворитель + вода»;

2) Выделение вкладов межмолекулярных взаимодействий типа «белок-вода» и «белок - органический растворитель» в суммарных тепловых эффектах образования систем «белок + органический растворитель + вода»

3) Выяснение возможности, исходя из информации по структуре молекулы растворителя, прогнозирования влияния органической среды на межмолекулярные взаимодействия типа «белок-вода» и «белок - органический растворитель»;

4) Построение феноменологической модели, позволяющей прогнозировать изменения в состоянии белков в неводных органических средах, а также их способности к взаимодействию с водой.

Научная новизна.

• В ходе выполнения работы впервые методом изотермической калориметрии было измерено более 100 величин тепловых эффектов смачивания осушенных белковых препаратов в органических растворителях с низким содержанием воды, а также тепловых эффектов растворения этих же препаратов в воде при 298 К.

• Впервые выявлена линейная корреляция между тепловыми эффектами смачивания белка в органических средах и величинами

площадей в разностном ИК спектре белка в области полосы амид I помещенного в те же растворители.

- Впервые установлено, что стабильность структуры сухих белков при комнатной температуре к воздействию органического растворителя может быть качественно предсказана, исходя из анализа величины свободной энергии растворения воды в растворителе и протонодонорной способности среды.

- Впервые установлено, что сольватация воды играет определяющую роль в процессе десорбции воды с белка в растворителях с высокой степенью гидрофильности.

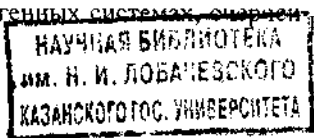
Практическая значимость работы. Полученные результаты представляются полезными для прогнозирования влияния неводных растворителей на свойства белков в биотехнологических процессах по производству высокочистых лекарственных препаратов, избирательно действующих гербицидов и пестицидов, реагентов тонкого химического синтеза.

Апробация работы. Результаты диссертационной работы докладывались на Всероссийской конференции молодых ученых "Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии" (Саратов, 1997 г.), на международной конференции "Hydrogen Bond" (Киев, Украина, 1998 г.), на VII Международной конференции "Проблемы сольватации и комплексобразования в растворах" (Иваново, 1998 г.), на II конгрессе биофизиков России (Москва, 1999), на II Всероссийской конференции молодых ученых "Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии" (Саратов, 1999 г.), на международной конференции "Биокатализ-2000: основы и применение" (Москва, 2000 г.), на II Научной конференции молодых ученых, аспирантов и студентов научно-образовательного центра Казанского государственного университета "Материалы и технологии XXI века" (Казань, 2000 г.), на итоговой конференции КГУ (Казань, 2002 г.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 4 статьи и тезисы 5 докладов.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста и содержит 45 рисунков и 37 таблиц. Диссертация состоит из введения, четырех глав, выводов, списка литературы из 100 наименований.

В первой главе изложен обзор свойств систем, в которых твердые белковые препараты непосредственно помещаются в органические среды. Проанализирована имеющаяся в литературе информация о процессах, определяющих свойства белков в органических растворителях. Показана актуальность изучения состояния белковых макромолекул в таких гетерогенных системах, очерчен круг наибо-



лее важных проблем. Во второй главе описаны экспериментальные методики и объекты исследования. В третьей главе изложены результаты собственных термохимических исследований по выделению вклада взаимодействия «белок - органический растворитель» в суммарные тепловые эффекты образования систем «белок - органический растворитель - вода». Осуществлена разработка качественной модели, позволяющей прогнозировать стабильность сухих белков при комнатной температуре в безводных органических средах. В четвертой главе на основании анализа собственных и литературных калориметрических данных, характеризующих процесс десорбции воды с белка в растворитель, предложен экспериментальный прием, позволяющий проводить выделение вклада тепловых эффектов десорбции воды с белка в растворитель в суммарные тепловые эффекты образования систем «белок - органический растворитель - вода». Показано, что в случае гидрофильных растворителей энтальпии сольватации воды в растворителе при бесконечном разбавлении вносят определяющий вклад в изменения величин тепловых эффектов десорбции воды с белка.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты исследования и методы измерения

В качестве объектов исследования были выбраны человеческий сывороточный альбумин (САЧ) и бычий панкреатический ахимотрипсин (ХТ). Использовались белковые препараты высокой степени очистки фирмы "Sigma". Органические растворители подбирались таким образом, чтобы составить ряд по степени их гидрофильности.

Тепловые эффекты измеряли при 298 К на микрокалориметре BT-215 "Setaram", специально предназначенном для изучения малоинтенсивных и длительных процессов, протекающих в различных биологических и физико-химических системах. Он позволяет проводить измерения с очень малыми навесками образца (порядка нескольких мг) в течение длительного времени (десятки часов). Концентрация воды в растворителях после проведения калориметрического эксперимента измерялась с помощью электрохимического титрования воды в среде отработанного реактива Фишера. Эксперименты по изучению термостабильности выполняли на усовершенствованном дифференциальном сканирующем калориметре DSK-111 "Setaram".

Тепловые эффекты, наблюдающиеся при внесении осушенных белков в органические растворители с низким содержанием воды

На рис. 1 приведены зависимости энтальпий смачивания осушенных белков в органических средах ($\Delta H_{\text{см}}$) как функций от концентрации воды в растворителе.

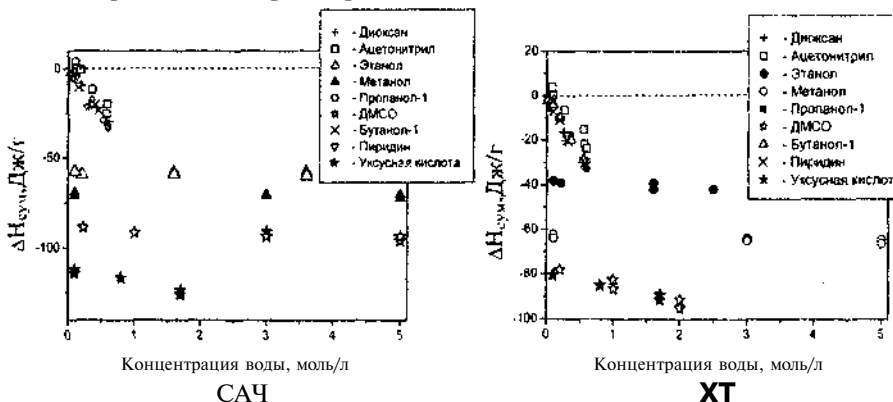


Рис. 1. Зависимости энтальпий смачивания сухого САЧ и ХТ от концентрации воды при 298 К.

Было установлено, что во всех случаях величины энтальпий смачивания линейно зависят от концентрации воды в растворителе. В каждом из растворителей была рассчитана путем линейной экстраполяции на нулевую концентрацию воды энтальпия смачивания сухого белка безводным органическим растворителем $\Delta H_{\text{см}}^0$ (табл. 1).

Очевидно, что взаимодействие белка с растворителем зависит от целого ряда факторов и, в этом смысле, calorиметрические характеристики состояния белка являются сложными, эффективными величинами, отражающими суммарный вклад различных процессов. В связи с этим представляет несомненный интерес установление взаимосвязи между тепловыми эффектами смачивания и изменениями в структуре белков. Количественно, изменения в состоянии вторичной структуры белка, наблюдающиеся при внесении препарата в органический растворитель или воду, характеризовали величиной площади (ΔA) в разностном спектре полосы Амид I ($1600-1700 \text{ см}^{-1}$).

При сопоставлении calorиметрических и спектроскопических величин (полученных в ходе совместного исследования сотрудником КИББ Файзуллиным Д.А.), были получены линейные зависимости (рис. 2) для альбумина:

$$-\Delta H_{\text{см}}^0 = (-6,6 \pm 0,6) + (15,9 \pm 0,7) \cdot \Delta A \quad (1),$$

и для химотрипсина:

$$-\Delta H_{\text{сум}}^0 = (-8,9 \pm 6,3) + (12,2 \pm 1,3) \cdot \Delta A \quad (2),$$

с коэффициентом корреляции $r=0,98$.

Табл. 1. Энтальпии смачивания САЧ и ХТ безводными органическими растворителями и энтальпии растворения белков в воде при 298 К.

№	Растворитель	$\Delta H_{\text{сум}}^0$, (Дж/г)	$\Delta H_{\text{сум}}^0$, (Дж/г)
		САЧ	химотрипсин
ПЕРВАЯ ГРУППА			
1	Тетрахлорметан	0.2±3.0.	1.611.6
2	Бензол	0.2±3.0	0.311.7
3	Нитрометан	7.9±2.0	1.810.2
4	Ацетонитрил	7.3±3.1	9.412.8
5	1,4-Диоксан	-0.611.3	2.8±2.3
6	Бутанол-1	-2.1 ± 19	-1.912.2
7	Пропанол-1	-0.410.9	-0.511.0
8	Пиридин	1.013.5	-0.411.1
ВТОРАЯ ГРУППА			
9	Этанол	-58.210.7	-38.111.9
10	Метанол	-69.7±0.7	-63.0±2.5
11	Вода	-91.812.8	-86.612.1
12	ДМСО	-89.012.0	-76.312.1
13	Уксусная кислота	-114.011.0	-81.011.1

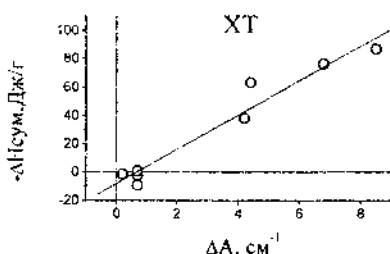
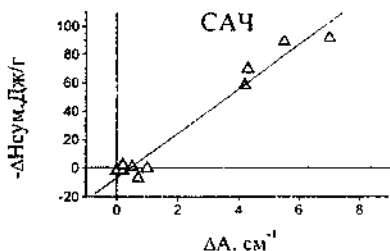


Рис. 2. Зависимость энтальпий смачивания осушенных препаратов САЧ и ХТ безводными органическими растворителями и энтальпии растворения в воде от величины ΔA .

Линейные корреляции свидетельствует о том, что независимо от природы растворителя и характера структурных изменений, чем

больше степень перестройки вторичной структуры сухого белка (мерой чего является величина ΔA), тем более экзотермичен процесс взаимодействия белок — растворитель.

Влияние гидрофильности растворителей на величины калориметрических характеристик состояния белков

Калориметрические данные были проанализированы с точки зрения влияния гидрофильности среды. Полученные зависимости представлены на рис. 3. В качестве меры гидрофильности растворителя использовалась свободная энергия растворения воды в растворителе: $\Delta G_{\text{раст.}}^{H_2O/S}$. С помощью этого термодинамического параметра мы можем количественно охарактеризовать изменения в сольватирующей способности растворителя по отношению к воде, являющейся естественным белковым окружением.

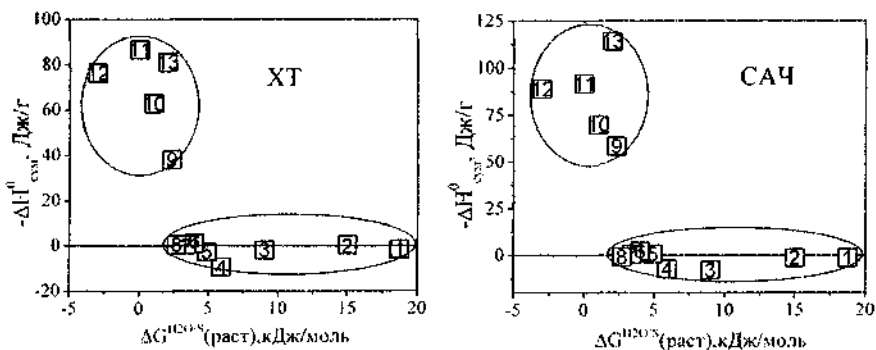


Рис. 3. Энтальпии смачивания осушенных препаратов САЧ и ХТ безводными органическими растворителями и энтальпии растворения в воде как функции от свободной энергии растворения воды в изученных средах при 298 К.

Как можно видеть из рисунка, растворители по своему влиянию на состояние сухого белка могут быть разделены на две группы. Одну группу образуют жидкости высокой степени гидрофильности — вода, ДМСО, этанол, метанол и уксусная кислота. В растворителях этой группы тепловые эффекты значительны по величине и экзотермичны. Наличие существенных изменений во вторичной структуре белков и значительных по величине экзотермических тепловых эффектов в растворителях этой группы дало нам основание предполагать, что в данном случае реализуются процессы, приводящие к ог-

раниченному набуханию белков органическими низкомолекулярными жидкостями, а в случае воды — к неограниченному набуханию и растворению.

Вторую группу образуют растворители, где независимо от гидрофильности величины тепловых эффектов близки нулю, а ИК - спектры не отличаются заметно от спектров сухого белка. Такое поведение сухого белка свидетельствует об устойчивости его состояния в растворителях этой группы при комнатной температуре. Причина такой устойчивости, по-видимому, заключается в том, что сухие белки находятся в кинетически заторможенном состоянии. По-видимому, энергетический барьер, который необходимо преодолеть белку для осуществления процесса набухания, весьма высок и при комнатной температуре не может быть преодолен.

Это заключение подтверждают результаты, полученные методом дифференциальной сканирующей калориметрии при изучении термостабильности суспензий альбумина в органических средах. В них и, в частности, в растворителях первой группы пиридине и ацетонитриле были зарегистрированы экзотермические пики, свидетельствующие о том, что при комнатной температуре белковый препарат термодинамически неравновесен по отношению к взаимодействию с органическим растворителем.

Влияние протонодонорной способности растворителя

При близкой гидрофильности на величину энергетического активационного барьера процесса набухания существенное влияние оказывает еще один фактор - протонодонорная способность растворителя. Так, например, этанол и пиридин обладают близкой гидрофильностью: 2.3 и 2.7 кДж/моль, соответственно. В то же время для протоноакцептора пиридина величины $\Delta H_{\text{связ}}^0$ близки нулю, а внесение сухих белков в протонодонор этанол сопровождается значительными структурными и тепловыми эффектами. Мы полагаем, что отсутствие у пиридина подвижных протонов существенно повышает энергетический барьер процесса набухания по сравнению с этанолом и при комнатной температуре он не реализуется.

Другой пример - пара: вода - ДМСО. В каждом из этих растворителей наблюдаются значительные тепловые эффекты, близкие по абсолютной величине. Однако, хотя ДМСО самый гидрофильный растворитель из изученных жидкостей, скорость тепловыделения в ДМСО гораздо ниже, чем в воде. В протоноакцепторе ДМСО тепловыделение наблюдалось в течение 6 часов, а в воде тепловые эффекты завершались уже через 40 минут.

Оба приведенных выше примера свидетельствуют о том, что при близкой гидрофильности энергетический барьер процесса набухания выше в протоноакцепторных средах, чем в протонодонорных.

Дифференцирующее действие растворителей на осушенные белки

На основании представленных выше результатов мы предлагаем качественную схему, позволяющую прогнозировать поведение осушенных белков при комнатной температуре в зависимости от гидрофильности и протонодонорной способности растворителя. Предлагаемую схему мы решили проиллюстрировать энергетической диаграммой (Рис. 4). На ней представлены изменения потенциальной энергии реагентов при движении по координате процесса для трех типичных случаев, наблюдаемых в настоящей работе. В основе предлагаемой схемы лежит следующее положение:

Потенциальный энергетический барьер набухания белка растворителем есть функция специфических взаимодействий, которые реализуются между белком и растворителем. Чем выше вклад специфических взаимодействий в общую энергию образования системы «белок + органический растворитель», тем ниже энергетический барьер набухания и выше вероятность того, что белок будет набухать в этой низкомолекулярной жидкости.

Рис. 4. Соотношение между величинами энергетического потенциального барьера набухания белка в зависимости от природы растворителя.



В приложении к нашим данным это означает, что в растворителях первой группы; термодинамическая гидрофильность которых больше 2.7 кДж/моль, вклад специфических взаимодействий незначителен и энергетический потенциальный барьер набухания твердого препарата белка настолько высок, что не может быть преодолен при комнатной температуре. На рис. 4 это верхняя кривая.

В растворителях второй группы, спиртах, воде, гидрофильность которых меньше 2.3 кДж/моль, вклад специфических взаимодействий наибольший, а энергетический барьер самый низкий, и белок в них набухает при комнатной температуре. На рис. 4 им соответствует нижняя кривая.

При близкой гидрофильности энергетический барьер набухания белка ниже в протонодонорных растворителях (например, в воде ниже, чем в ДМСО). На рис. 4 диметилсульфоксиду соответствует средняя кривая.

Тепловые эффекты десорбции воды с белка

Следующим этапом настоящей работы стало изучение влияния природы растворителя на взаимодействие воды с белком. Ранее на основании анализа литературных данных по адсорбции воды на сывороточном альбумине в органических средах, было установлено, что в условиях, соответствующих калориметрическому эксперименту, десорбция воды с белкового препарата, содержащего в исходном состоянии 10 % воды, происходит практически полностью в органических растворителях средней и высокой степени гидрофильности. Это подтверждают представленные в табл. 2 величины остаточной воды на белке $A_{\text{ост}}$ после внесения в органический растворитель, которые были рассчитаны путем аппроксимации изотерм адсорбции воды на нулевую концентрацию воды в органическом растворителе.

Табл. 2. Количество остаточной воды на САЧ, содержащего в исходном состоянии 10% воды, после выдерживания в безводном органическом растворителе. Условия определения остаточной воды соответствуют условиям калориметрического эксперимента.

№	Растворитель	Количество остаточной воды $h_{\text{ост}}$, % (г воды/г сухого белка)
1	Диоксан	0.5 ± 0.3
2	Бутанол-1	-0.2 ± 0.7
3	Этанол	1 0.810.6
4	ДМСО	1 -0.6 ± 0.6

Величины энтальпий десорбции воды с белка в органические растворители, были рассчитаны в предположении полного переноса всех 10 % воды с белкового препарата в органические растворители по формуле: $\Delta H_{\text{десорб}}^{H_2O/S} = (\Delta H_{\text{сум}}^0(10\%) - \Delta H_{\text{сум}}^0(0\%))/h$, где h - влажность белка.

Далее мы проанализировали влияние природы среды на величины энтальпий десорбции воды с белка для каждой из групп растворителей, опираясь на термодинамические данные по сольватации воды.

При этом мы использовали схему, в рамках которой предполагается, что энтальпии смачивания увлажненного белка ($\Delta H_{\text{сум}}^0(10\%)$)

содержат вклады только двух процессов: процесса №1 - десорбции воды с белка (рис. 5) и процесса №2 - взаимодействия самого белка с органическим растворителем. Поэтому при вычитании $\Delta H_{\text{сум}}^0 (0\%)$ из величины $\Delta H_{\text{сум}}^0 (10\%)$ мы получаем величину энтальпии переноса воды с белка в растворитель $\Delta H_{\text{десорб}}^{H_2O/S}$.

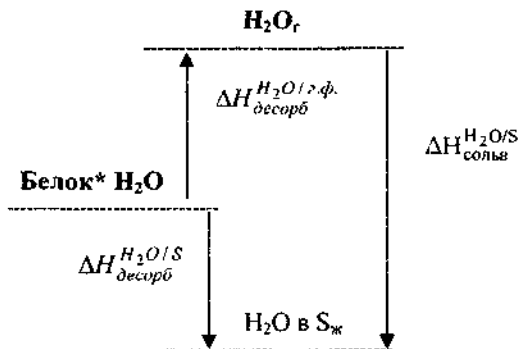


Рис. 5. Схема разделения теплового эффекта десорбции воды с белка в растворитель $\Delta H_{\text{десорб}}^{H_2O/S}$ (процесс №1) на вклады процессов десорбции воды с белка в газовую фазу $\Delta H_{\text{десорб}}^{H_2O/г.ф.}$ и сольватации воды растворителем $\Delta H_{\text{сольв}}^{H_2O/S}$.

При этом предполагается, что величина теплового эффекта ($\Delta H_{\text{сум}}^0 (0\%)$) одинакова как в случае сухого, так и увлажненного белка. Это означает, что в рамках предлагаемой схемы, в конечном счете, увлажненный и сухой белок с точки зрения энтальпии придут к одинаковому состоянию.

В свою очередь величина $\Delta H_{\text{десорб}}^{H_2O/S}$ содержит вклады двух процессов (Рис. 5): десорбции воды с белка в газовую фазу ($\Delta H_{\text{десорб}}^{H_2O/г.ф.}$) с последующей сольватацией воды растворителем ($\Delta H_{\text{сольв}}^{H_2O/S}$). Поэтому величина энтальпии десорбции воды в растворитель $\Delta H_{\text{десорб}}^{H_2O/S}$ должна зависеть от энтальпии сольватации воды.

С целью проверки положений, заложенных в схему мы сопоставили величины $\Delta H_{\text{десорб}}^{H_2O/S}$ для растворителей первой и второй

группы с энтальпиями сольватации воды в растворителе $\Delta H_{\text{сольв}}^{\text{H}_2\text{O/S}}$ при 298 К.

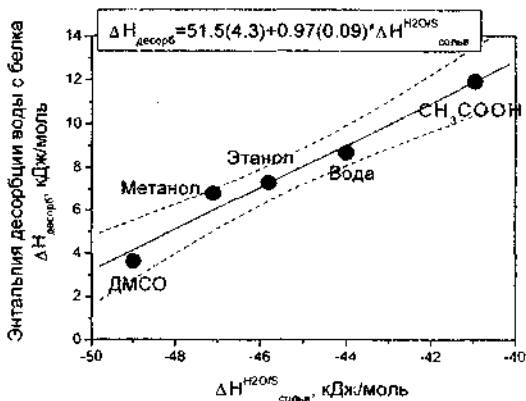


Рис. 6. Зависимость энтальпии десорбции воды с белка от энтальпии сольватации воды в растворителе $\Delta H_{\text{сольв}}^{\text{H}_2\text{O/S}}$ при 298 К для растворителей из второй группы. Штриховые линии соответствуют 95% доверительному интервалу.

Только для растворителей второй группы была обнаружена линейная корреляция между энтальпиями десорбции воды с белка и энтальпиями сольватации воды растворителем (Рис. 6). Причем, угловой коэффициент этой зависимости близок единице. Этот результат свидетельствует о том, что для второй группы растворителей, т.е. сред с высокой степенью гидрофильности, во первых, только сольватация воды растворителем определяет изменения в величинах $\Delta H_{\text{десорб}}^{\text{H}_2\text{O/S}}$; во вторых, данные по энтальпиям сольватации воды в растворителе $\Delta H_{\text{сольв}}^{\text{H}_2\text{O/S}}$ способны учесть этот эффект.

Свободный член линейной зависимости на рис. 6, равен 51.5 кДж/моль и соответствует энтальпии десорбции воды с белка в газовую фазу [Kuntz I.D., Kauzmann W. Adv. Protein Chem. 1974].

Для растворителей первой группы не было обнаружено удовлетворительной корреляции между энтальпиями десорбции воды с белка и энтальпиями сольватации воды растворителем. Причина этого, по-видимому, состоит в том, что конечные состояния белка в одном и том же растворителе первой группы для увлажненного и осушенного белка различны.

Для растворителей же второй группы исходная влажность белка или способ увлажнения, по-видимому, не влияет на конечные состояния белка. В любом случае конечное состояние белка в растворителях высокой степени гидрофильности оказывается одним и тем же. Однако, эти конечные состояния в каждом растворителе различны.

Таким образом, исходя из изложенных выше фактов и сопоставлений, может быть предложена качественная схема, позволяющая прогнозировать влияние природы среды на величины десорбции воды с белка в осушенные органические растворители высокой степени гидрофильности, опираясь только на знание энтальпий растворения увлажненного и сухого белка в чистой воде, а также величины энтальпий сольватации воды в растворителе $\Delta H_{\text{сольв}}^{\text{H}_2\text{O}/\text{соль}}$

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Методом изотермической калориметрии при 298 К определены энтальпии смачивания двух белков — сывороточного альбумина человека и бычьего панкреатического химотрипсина - в органических средах с низким содержанием воды. На основании полученных калориметрических данных на примере 12 органических растворителей различной природы (углеводороды, протоноакцепторные растворители, моноатомные алифатические спирты, карбоновая кислота) предложен способ выделения вклада теплового эффекта взаимодействия белка с безводным органическим растворителем в суммарные тепловые эффекты образования систем «сухой белок + органический растворитель + вода».

2. Обнаружена линейная корреляция между величинами энтальпий смачивания сухих белков и структурными изменениями в соответствующих безводных органических средах, которая свидетельствует о том, что тепловые эффекты смачивания определяются, главным образом, изменениями во вторичной структуре белков.

3. На основании сопоставления данных изотермической калориметрии и ИК-спектроскопии установлено, что состояние изученных белков в безводных органических жидкостях и воде при комнатной температуре определяют, главным образом, два фактора - *гидрофильность* и *протонодонорная способность среды*:

- в гидрофобных и умеренно гидрофильных средах вне зависимости от их протонодонорной способности состояние вторичной структуры белка не отличается существенно от ее исходного состояния в сухом белке, а энтальпии смачивания сухого белкового препарата в этих растворителях близки нулю. В таких средах сухой белок по

причинам, вероятно, кинетического характера оказывается устойчивым к воздействию органического компонента;

- в средах высокой степени гидрофильности реализуются процессы, сопровождающиеся значительными по величине экзотермическими тепловыми эффектами и приводящие к перестройке исходной вторичной структуры сухих белков;

- при близкой гидрофильности скорость протекания изменений в состоянии сухого белка выше в протонодонорных средах, чем в протонаакцепторных.

4. Предложен способ выделения вклада теплового эффекта десорбции воды с белка в тепловые эффекты образования систем «увлажненный белок + органический растворитель + вода». На основании сопоставления величин тепловых эффектов десорбции воды с белка и энтальпий сольватации воды в органических средах при бесконечном разбавлении установлено, что сольватация воды играет определяющую роль в процессе десорбции воды с белка в гидрофильных растворителях.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ ИЗЛОЖЕНЫ В СЛЕДУЮЩИХ ПУБЛИКАЦИЯХ:

1. Зинатуллин А.Н. Исследование сывороточного альбумина человека в безводных органических средах методами изотермической калориметрии и ИК-спектроскопии/ А.Н. Зинатуллин, В.А. Сироткин, Б.Н. Соломонов, Д.А. Файзуллин., В.Д. Федотов // Журнал физической химии. 2000. Т.74. №4. с.743-748.

2. Zinatullin A.N. Calorimetric and FTIR-spectroscopic study of solvent effect on the state of dry solid bovine pancreatic α -chymotrypsin immersed in anhydrous organic solvents/ A.N. Zinatullin, V.A Sirotkin, B.N. Solomonov, D.A. Faizullin, V.D.Fedotov // Vestnik Moskovskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Khimiya. 2000. Vol. 41. №. 6. P.37-42.

3. Zinatullin A.N. Calorimetric and Fourier transform infrared spectroscopic study of solid proteins immersed in low water organic solvents/ A.N. Zinatullin, V.A Sirotkin, B.N. Solomonov, D.A. Faizullin, V.D.Fedotov // Biochim. Biophys. Acta. 2001. V. 1547. Iss.2. P. 359-369.

4. Zinatullin A.N. Interaction enthalpies of solid bovine pancreatic chymotrypsin with organic solvents: comparison with FTIR-spectroscopic data/ A.N. Zinatullin, V.A Sirotkin, B.N. Solomonov, D.A. Faizullin, V.D.Fedotov//Thermochimica Acta. 2002. V.382. P. 151-160.

5. Зинатуллин А.Н Влияние природы органической среды на энтальпии образования гетерогенных систем "белок + органический растворитель"/ А.Н. Зинатуллин, В.А. Сироткин, Б.Н. Соломонов // Тезисы докладов Всероссийской конференции молодых ученых.

"Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии. - Саратов. 1997. С.335-336.

6. Zinatullin A.N. Calorimetric and spectroscopic study of solvent effect on state of human serum albumin suspended in anhydrous organic solvents/ A.N. Zinatullin, V.A Sirotkin, B.N. Solomonov, D.A. Faizullin, V.D.Fedotov // Proceeding of the International Conference "Hydrogen bond"., Kyiv. (Ukraine). 1998. P.41.

7. Zinatullin A.N. Calorimetric study of solvent effect on state of dry solid human serum albumin/ A.N. Zinatullin, V.A Sirotkin, B.N. Solomonov // Absrtacts of VII International Conference "The problems of solvation and complex formation in solutions", Ivanovo (Russia). 1998. P.306.

8. Зинатуллин А.Н, Изучение термостабильности сывороточного альбумина человека, суспендированного в ацетонитриле/ А.Н. Зинатуллин, В.А. Сироткин, Д.В. Захарычев, Б.Н. Соломонов // Тезисы докладов II Всероссийской конференции молодых ученых. "Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии. - Саратов. 1999. С. 185.

9. Зинатуллин А.Н. Калориметрическое изучение бычьего панкреатического а-химотрипсина в смесях вода — ацетонитрил / А.Н. Зинатуллин, В.А. Сироткин, Б.Н. Соломонов // Тезисы докладов итоговой конференции Республиканского конкурса научных работ среди студентов и аспирантов на соискание премии им. Н.И. Лобачевского, Казань. 2002. С. 133.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант №98-03-32102), центра Фундаментального Естествознания Санкт-Петербургского государственного университета (грант .Ч«97-0-9.3-283), фонда НИОКР Академии наук Республики Татарстан.